

КАЧЕСТВО ПЫЛЬЦЫ У ГЕТЕРОЗИСНЫХ КОМБИНАЦИЙ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ ЗЕМЛЯНИКИ

Т. С. Фадеева, Н. М. Иркаева

Изучение качества пыльцы у гибридов имеет большое практическое значение, так как особенности пыльцы гибридов определяют продуктивность гибридных растений, что особенно важно при односортовых (точнее моногибридных) посадках или посевах. Наряду с этим исследованием пыльцы гибридов представляют интерес для решения вопросов теории гетерозиса — выяснения его физиологической и генетической сущности. Изучение качества пыльцы у гибридов гетерозисных комбинаций позволяет установить, распространяется ли гетерозисный тип развития гибрида на его гаплоидную (гаметофитную) фазу.

Гетерозис на диплоидной фазе осуществляется на основе различных генетических механизмов: гетерозиготности (аллельного взаимодействия), 2) объединения у гибридов доминантных благоприятных генов (неаллельного взаимодействия) и 3) ядерно-цитоплазматического взаимодействия. Все эти механизмы могут иметь значение и для гаплоидной фазы, но тогда должно сказаться и своеобразие этой фазы.

Качество пыльцы гибрида будет зависеть прежде всего от тех генов, которые действуют на гаметофитной (гаплоидной) стадии. Характерная для растений гибрида гетерозиготность, хотя и отсутствует на гаплоидной фазе, может дать следовой эффект, распространяющийся на качество пыльцы. Объединение доминантных благоприятных генов на диплоидном уровне представлено у всех особей F_1 , тогда как на гаплоидной фазе — только у части пыльцевых зерен.

Эффект различий между пыльцой родительских форм и их гибридов может усугубляться своеобразными ядерно-цитоплазматическими отношениями, так как в цитоплазме гибрида формируются различные новые типы гаплоидных ядер. Поскольку гибриды разных направлений скрещиваний получают с яйцеклеткой различную цитоплазму, то реципрокные различия по качеству пыльцы у гибридов есть основание объяснять разницей в цитоплазме этих гибридов.

К исследованию реципрокных гибридов земляники мы обращались ранее с целью выяснить значение направления скрещиваний для особенностей гибридов на ранних фазах развития (Фадеева и Кириллова, 1961; Фадеева и Дятлова, 1962). Нами показано, что у земляники реципрокные гибриды имеют различную энергию прорастания семян; при этом выяснено, что энергия прорастания детерминирована не только происхождением околоплодника, но и качеством гибридного зародыша семени. Показано также, что на ранних фазах роста гибриды земляники отличаются по ряду свойств, характеру первых листьев, скорости роста и дру-

тим признакам. Нужно подчеркнуть, однако, что эти показатели очень изменяются в связи с условиями роста. Подобно тому, как гетерозис у гибридов выявляется в той или иной степени в зависимости от условий выращивания, точно так же реципрокные различия между гибридами сильно зависят от условий роста.

В данной работе мы обратились к изучению реципрокных гибридов с целью выявить значение ядерно-цитоплазмических отношений на гаплоидном уровне. Нами оценивалось по ряду показателей качество пыльцы земляники.

В литературе широко представлены исследования по физиологии и морфологии пыльцы. Они изложены в сводках А. В. Дорошенко (1928), Джори и Вазила (Johri a. Vasil, 1961) и других, однако известно крайне мало данных о сравнительных исследованиях пыльцы гибридов и родительских форм. С. Г. Тедорадзе (1958) показана большая активность в процессе опыления пыльцы межсортного гибрида кукурузы, по сравнению с пыльцой исходных сортов: от опыления пыльцой гибрида получается более высокий процент завязывания. Л. И. Калантарян (1956) сообщает об относительно больших размерах пыльцы гибридов кукурузы, достоверно отличающихся от пыльцы родительских форм.

Работы по изучению пыльцы земляники немногочисленны. Морфология пыльцевых зерен вида *Fragaria collina* Ehrh. описана В. Н. Андреевым (1925). Автор характеризует пыльцу как округло-треугольную, — триангуло, описав ее он проводил после помещения в каплю жидкости.

Нами исследованы морфологии пыльцы разных видов *Fragaria* чок-ландия, пыльца земляники овально-продолговатая, трехбороздчатая по длине (Р. Беридзе (1961)), зрелая пыльца земляники трехбороздчатая, трехборозная, сплюснуто-сфероидальной формы с двуслойной оболочкой.

Физиологические особенности пыльцы земляники, касающиеся продолжительности жизни пыльцы, изучались рядом авторов (Crandall, 1942; Adams, 1946; Вернер и Третьякова, 1961). Крандалл сообщает о сохранении жизнеспособности в течение 16 дней. Вернер и Третьяковой удалось обнаружить жизнеспособную пыльцу после 50—100 дней хранения при низкой температуре.

Мы в своей работе оценивали качество пыльцы по степени ее фертильности, способности к длительному хранению, по размеру и морфологии пыльцевого зерна.

Опыты проводились в 1960—1962 гг., но в данной работе сообщаются результаты 1962 г., как наиболее интересные. В работе использованы формы диплоидной земляники вида *Fragaria vesca* L. В качестве родительских форм были взяты линии, которые уже в течение 2—3 поколений показали константность признаков, т. е. такие, которые практически можно считать гомозиготными.

Р — линия из сорта Рюген, по морфологическим признакам повторяет сорт: яровая, среднеспелая, ремонтантная, усов не дает, куст средней величины, при хорошей агротехнике — крупный, ягода красная, семечки мелкие.

Л23 — линия, выделенная из местной лесной земляники: озимая, раннеспелая, усы образует, куст (в условиях культуры) средней величины, среднекустистый, ягода красная, цветение дружное, кратковременное.

Б I — линия из сорта Белая месячная: озимая, позднеспелая, безусая, куст сильно кустистый (до 300—400 побегов в кусте), ягода белая, продуктивность куста низкая.

Б II — линия из сорта Белая месячная: озимая, позднеспелая, усы образует, куст простратный, низкий, ягода белая, цветонос «штамбовый», ягода удлинённая, чашечка листовидная.

Были изучены реципрокные гибриды первого поколения между Р и Б I, Р и Б II и Р и Л23. Установлено, что гибриды этих комбинаций на ранних фазах развития имеют реципрокные различия, но на поздних фазах не различаются.

Гибриды линий Р и Б I — озимые, куст мощный, растения в 1,5—2 раза крупнее исходных форм, усы образуют (комплементарное наследование признака), цветоносов мало, ягоды крупные, общая продуктивность куста ниже, чем у Р, но значительно выше, чем у Б I.

Гибриды линий Р и Л23 — озимые, гетерозисные по продуктивности куста и вегетативной массе, размеру куста и количеству усев, ягоды крупнее, чем у исходных форм, ягод на соцветии много.

Гибриды линий Р×Б II — озимые, куст крупнее, мощный, ягода крупная, но число цветоносов на куст меньше, чем у исходных форм, поэтому по общей продуктивности не превышает Р, но значительно превышает Б II.

В качестве основного метода определения жизнеспособности пыльцы было использовано проращивание на 1%ной агаровой среде с добавлением 5—7% сахара. В меньшей степени жизнеспособность определяли прижизненными красителями: метиленовым синим и метиленовым красным в буферном растворе при pH = 7,47—8,00. Для оценки пыльцы производили с рисовальным аппаратом при увеличении $\times 70$, $\times 100$ и ок. $10\times$, об. $90\times$.

Морфология пыльцевых зерен *Р. акариформе* и *Р. альпика* весьма сходная, но заметно различия имеются в размерах пыльцевых зерен. У форм вида *F. sexta* различия по размеру зерен очень значительные (табл. 1).

Таблица 1

Размеры сухих пыльцевых зерен (измерение при увеличении 7—40 с рисов. аппаратом в мкм)

| Линии и гибриды | Длина | Ширина | Индекс | Длина × ширина |
|-----------------|-----------|----------|--------|----------------|
| Р | 13,6±0,08 | 7,4±0,07 | 1,84 | 100,1 |
| Р×Б I | 14,2±0,09 | 7,2±0,08 | 1,97 | 102,9 |
| Б I×Р | 13,4±0,09 | 7,1±0,07 | 1,89 | 94,5 |
| Б I | 13,8±0,09 | 7,0±0,07 | 1,86 | 96,6 |
| Р×Л23 | 13,5±0,09 | 7,1±0,07 | 1,91 | 95,8 |
| Л23×Р | 13,9±0,08 | 7,3±0,07 | 1,89 | 101,3 |
| Л23 | 13,9±0,08 | 7,1±0,07 | 1,95 | 98,6 |

Пыльцевые зерна диплоидной земляники овально-вытянутой формы с тремя порами, окаймленными валиками экзины, придающими порам вид щели. При рассматривании под микроскопом сухой пылью, как правило, видна только одна пора, щель которой вытянута по длинной оси. Экзина имеет извилисто-бороздчатую структуру. Набухшая пыльца становится почти шаровидной; при определенном положении пыльцевого зерна можно видеть все три поры, которые занимают поверхностное положение (рис. 1).

Размеры сухого пыльцевого зерна диплоидной земляники варьируют: длина в пределах 24—29 мк, ширина 12—16 мк. Пыльцевые зерна несколько различаются по индексу (отношение длины к ширине). На-

и больший индекс у пыльцевых зерен линий Б1 и Л23, линия Р имеет относительно более короткие пыльцевые зерна (табл. 1). Гибриды по величине индекса занимают промежуточное положение (рис. 2). Наиболее длинные и объемные пыльцевые зерна у гибрида Р×Б1. Последнее

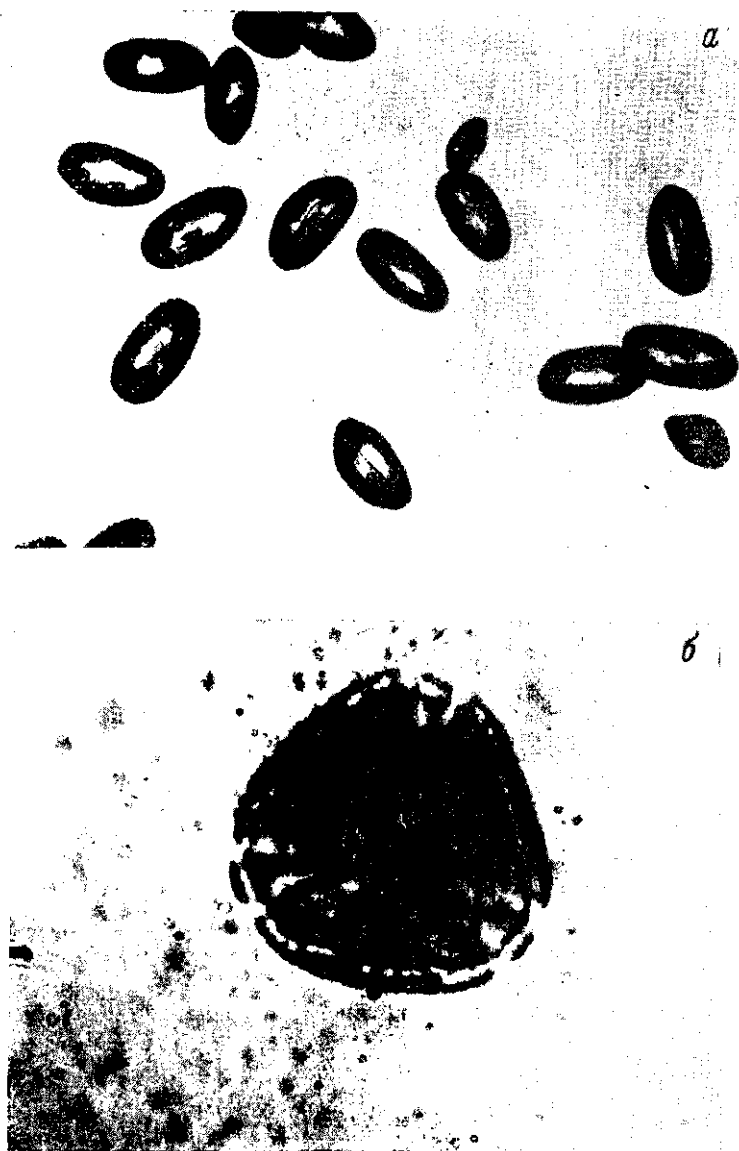


Рис. 1. Пыльцевые зерна земляники.

а — ненабухшие (микрофото, 7 × 40); б — после окраски (микрофото, 10 × 90).

может быть связано с тем явлением, которое описывается ниже, — со значительным количеством у этого гибрида abortивной пыльцы (до 41%), т. е. с развитием в каждом пыльнике меньшего числа пыльцевых зерен. Для гибрида Б1×Р измерение пыльцевых зерен производили после окрашивания их ацетокармином. Диаметр таких пыльцевых зерен составлял 20—25 мк; значительных различий по размерам не выявлено.

Итак, гибриды F_1 чаще имели промежуточный тип пыльцевых зерен по форме (индексу) в сравнении с родительскими формами. Очевидно, это является результатом случайного распределения генов, ответственных за величину пыльцевого зерна. Обращают на себя внимание достоверные реципрокные различия по величине зерен у одного из гибридов (Р и БІ).

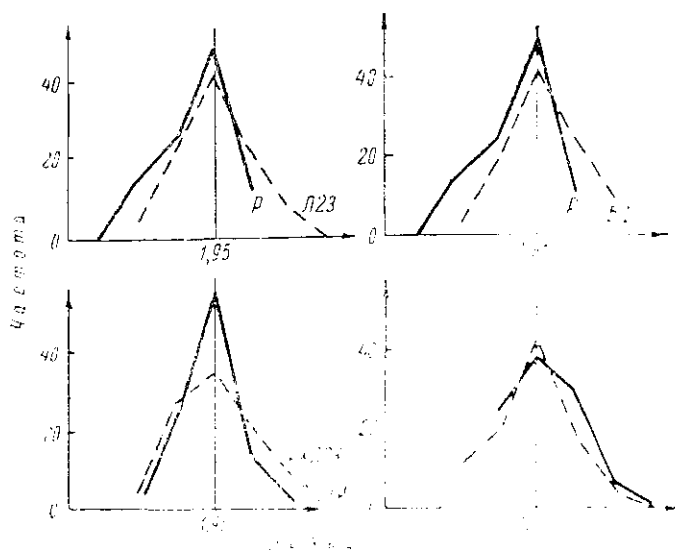


Рис. 2. Распределение пыльцевых зерен по величине у линий Р и БІ и их гибридов.

Количество abortивной пыльцы. У многих сортов *Fragaria*, особенно у многохромосомных видов, всегда имеется некоторое количество abortивной пыльцы (Valleau, 1918; Kuhn, 1960; Ralston, 1960; Герман, 1939). По нашим наблюдениям, у различных форм сорта *F. moschata* Duch. количество abortивной пыльцы 15–30%. У многохромосомных форм

Г. Герман.

Количество abortивных пыльцевых зерен у линий Р и БІ и их гибридов (подсчет при увеличении 15×5)

| Гибриды и линии | Учено 6 VII | | | | Учено 14 VII | | | |
|-----------------|-------------|------------|----------------|------------------|--------------|------------|----------------|------------------|
| | всего | abortивные | % abortивной | $t_{\text{ант}}$ | всего | abortивные | % abortивной | $t_{\text{ант}}$ |
| Р | 1341 | 35 | $2,6 \pm 0,3$ | | 1060 | 28 | $2,6 \pm 0,4$ | |
| Р×БІ | 1780 | 728 | $40,8 \pm 1,1$ | 24,8 | 1630 | 679 | $41,5 \pm 1,2$ | 22,8 |
| БІ×Р | 1472 | 61 | $4,2 \pm 0,5$ | 25,7 | 1238 | 44 | $3,5 \pm 0,5$ | 23,4 |
| БІ | 1882 | 195 | $10,5 \pm 0,7$ | 6,8 | 1448 | 203 | $14 \pm 0,9$ | 9,2 |
| Р | 1341 | 35 | $2,6 \pm 0,3$ | 8,6 | 1060 | 28 | $2,6 \pm 0,4$ | 9,5 |

нередко этот процент также велик. У диплоидных сортов-клонов количество деформированной пыльцы очень небольшое (например, у Красной месячной). Изучаемые нами линии и гибриды значительно различались по этому показателю (табл. 2).

Линия БІ имела больше деформированной пыльцы, чем линии Р и БІІ. Реципрокные гибриды линий Р и БІ достоверно различались между собой: у гибрида Р×БІ — 40–41% abortивной пыльцы, тогда как:

Б1×Р — 3—4% (рис. 3). У гибрида Р×Б1 пыльца значительно худшего качества, чем у обеих родительских линий. Большое количество деформированной пыльцы у гибрида Р×Б1 дало нам основание предположить, что линии Б1 и Р различаются по хромосомной аберрации (транслокации или инверсии), однако реципрокные различия говорят о других

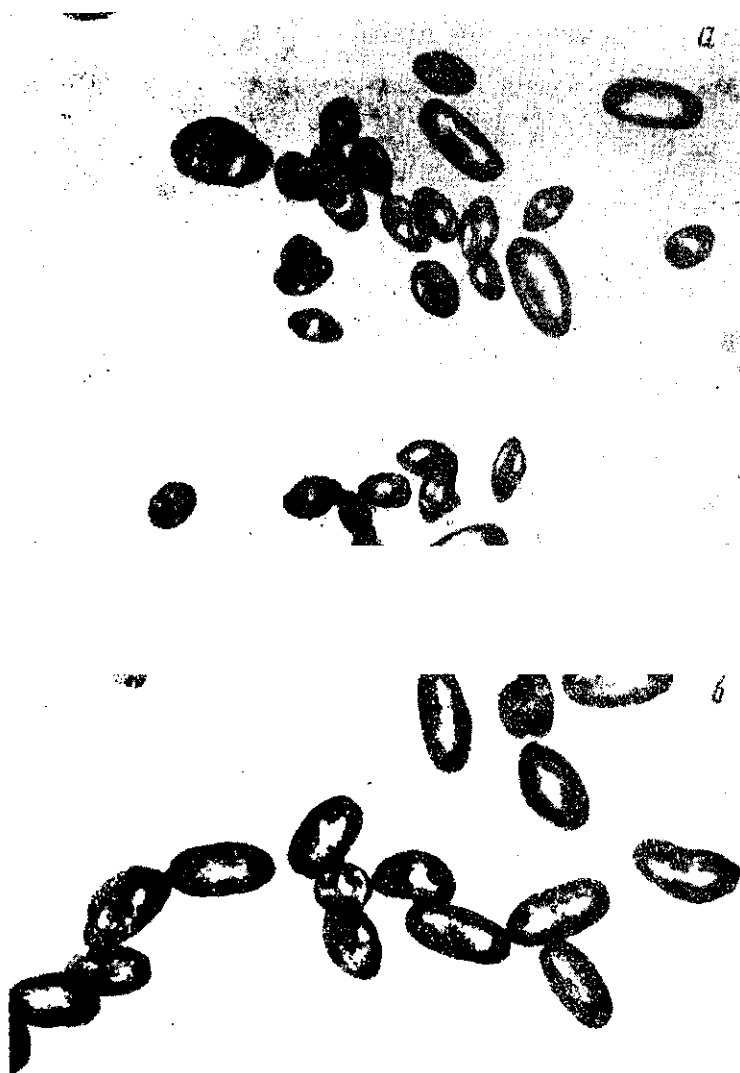


Рис. 3. Микрофотография пыльцы гибридов.
а — Б1 × Р; б — Р × Б1, у гибрида много abortивной пыльцы.

причинах этого явления. Если предположение о хромосомной аберрации было бы верно, то гибрид Б1×Р также должен был бы давать большое количество abortивной пыльцы, но у этого гибрида пыльца хорошего качества. Поэтому мы допускаем предположение, что причиной большого количества abortивной пыльцы у гибрида одного из направлений скре-

шиваний является несовместимость ядер определенного генетического состава и цитоплазмы линии Р. Возможно, линия Б1 вносит в гибрид ген, действующий на гаметофитной фазе и неспособный развиваться в цитоплазме Р. Тот же ген в цитоплазме Б1 не препятствует развитию пыльцевых зерен.

Жизнеспособность пыльцы. Оценку жизнеспособности пыльцы и сроков хранения пыльцы проводили в основном путем проращивания ее на агаровой среде. Для этого капли среды наносили на предметное стекло — три капли с интервалом 8–10 мин. и предметное стекло помещали в чашку Петри. Посев пыльцы проводили на хорошо застывший агар резиновой «печаткой» без повреждения агара. При принятой нами методике проращивания мы получали через 5–6 ч достаточно дружное образование пыльцевых трубок. Капли с проросшей пылью окрашивали ацетокармином через сутки в воде (рис. 4). Посев пыльцы каждого варианта проводили в шестикратной чашке Петри (на шести каплях среды).



Рис. 4. Общий вид проросшей на агаровой среде пыльцы. Видны короткая, средняя и длинная пыльцевые трубки.

Опыты по изучению жизнеспособности пыльцы проводили повторно два-три раза: в начале цветения, в период массового цветения и в конце цветения. Цветение земляник в 1962 г. прошло в сравнительно стандартные сроки при оптимальных условиях (конец мая и начало июня). Неблагоприятные погодные условия сказались на сроках цветения, длине пыльцевых трубок и на сроках созревания ягод. Общее количество жизнеспособной пыльцы и длительность сохранения ею жизнеспособности в 1962 г. отличались от предыдущих лет изучения. Жизнеспособной и способной к оплодотворению мы считаем пыльцу, которая при проращивании на агаровой среде дает длинные и средней величины пыльцевые трубки (рис. 4), пыльца, дающая только короткие пыльцевые трубки, уже не способна к оплодотворению. При хранении пыльцы в комнатных условиях с температурой 18–25° способность прорасти на агаровой среде сохраняется у нее в течение 10–20 дней (табл. 3 и 4).

В течение периода цветения у линий и гибридов несколько меняется качество пыльцы. Особенно это хорошо видно на примере рекомбинантной линии Р: в начале цветения процент прорастающей пыльцы у нее был

Таблица 3

Количество проросших пыльцевых зерен на агаровой среде у линий Б1 и Р и их гибридов (пыльца от 14 VII)

| Гибриды и линии | Число дней хранения | | | | | |
|----------------------|---------------------|------------|------|------------|------|-----------|
| | 4 | | 9 | | 12 | |
| | n | % | n | % | n | % |
| Р | 898 | 57,4 ± 1,7 | 2146 | 15,8 ± 0,8 | 1575 | 0 |
| Б1×Р | 993 | 80,5 ± 1,3 | 1758 | 16,0 ± 0,9 | 1402 | 2,7 ± 0,4 |
| Р×Б1 с а | 1105 | 44,8 ± 1,5 | 2125 | 11,7 ± 0,7 | 1476 | 0,1 ± 0,1 |
| Р×Б1 без а | 763 | 64,8 ± 1,7 | 1130 | 21,2 ± 1,2 | 915 | 0,2 ± 0,1 |
| Б1 | 245 | 40,7 ± 2,4 | 1286 | 24,1 ± 1,2 | 1366 | 0 |

Таблица 4

Количество проросших пыльцевых зерен у линий Б1 и Р и их гибридов (пыльца от 29 VI)

| Гибриды и линии | Число дней хранения | | | | | |
|-----------------|---------------------|------------|-----|------------|------|------------|
| | 6 | | 12 | | 18 | |
| | n | % | n | % | n | % |
| Р | 551 | 13,0 ± 1,8 | 263 | 14,0 ± 2,1 | 1580 | 1,2 ± 0,3 |
| Р×Б1 | 525 | 95,0 ± 0,9 | 246 | 27,6 ± 2,8 | 1300 | 2,2 ± 0,4 |
| Б1×Р | 215 | 39,0 ± 3,2 | 307 | 32,5 ± 2,8 | 1591 | 13,5 ± 0,9 |
| Б1 | 533 | 35,0 ± 2,2 | 282 | 52,3 ± 2,8 | 1491 | 9,9 ± 0,8 |

в опытах с пыльцой от 12 и 14 июля, так как при сборах пыльцы в июне и сентябре пыльца была вялая (18 и 50%). Однако различия по качеству пыльцы у линий и их гибридов достаточно устойчивые. Так, в комбинации Л23 и Р гибрид Р×Л23 имел значительно больше жизнеспособной пыльцы во всех трех сроках опыта. У комбинации Б1 и Р гибрид одного из направлений скрещивания также имеет заметный перевес по проценту жизнеспособной пыльцы по сравнению с гибридом Р×Б1. Для этого гибрида Р×Б1 в 1954 г. расчет процента проведен с учетом всех пыльцевых зерен, включая и абортивную (с а) и неклиная абортивную (без а). Некоторые различия имеются между гибридами и по длительности хранения пыльцы: на 12-й день хранения практически проросла только пыльца Б1×Р.

Значительные рецессивные различия обнаружены и для гибрида линий Б1 и Р (табл. 4): гибриды различались по проценту жизнеспособной пыльцы, длительности хранения, по длине пыльцевых трубок. В опыте, где сбор пыльцы проведен в июне месяце, линия Р вновь дала малое число прорастающей пыльцы, тогда как пыльца гибридов прорастала энергично. Особенно интенсивно прорастала в первые дни пыльца гибрида Р×Б1 и давала очень длинные пыльцевые трубки. Однако жизнеспособность дольше сохраняла пыльца гибрида Б1×Р: на 15-й день хранения у этого гибрида проросло 15% пыльцевых зерен. Этим же характеризовалась и линия Б1. Линия Б1 при всех сроках сбора пыльцы сохраняла жизнеспособность в течение наибольшего периода времени (до 22 дней).

Проведенные учеты вскрыли нам особенности пыльцы линий и их гибридов по ряду показателей. Различия по изучаемым показателям довольно стойко повторялись при разных сроках сбора пыльцы и в разных

повторностях опыта. Это говорит о генетической детерминированности этих свойств.

Различный состав пылевых популяций линий и их гибридов по количеству фертильной и жизнеспособной можно продемонстрировать на примере комбинации Р и Б1 (рис. 5). Как следует из рис. 5, состав пыльцы — относительное количество деформированной пыльцы, пыльцы, проросшей на агаровой среде, и непроросшей — отличается не только у линий, но и гибридов в зависимости от направлений скрещиваний. Здесь

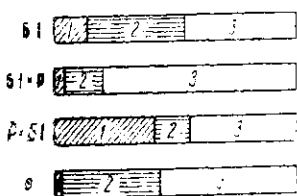


Рис. 5. Состав пылевой популяции линий Б1 и Р и их гибридов на четвертый день хранения (14 VII).

Материал: 1 — abortивная; 2 — непроросшая; 3 — проросшая на среде (агаризованной).

четко выявляются реципрокные различия между гибридами по качеству пыльцы. Изучаемые нами гибриды F_1 на диплоидной фазе, как сказано выше, являются гетерозисными по вегетативным признакам и в меньшей степени — по продуктивности. В период цветения и плодоношения у гибридов реципрокные различия между гибридами по морфологии кустика, соцветия, длине и толщине соцветия. Однако на гаплоидной фазе, т. е. в период пыльцы мы обнаруживаем различия между гибридами, различия между гибридами. Взаимное сравнение качества пыльцы гибридов, полученных в противоположных направлениях скрещивания, дает основание говорить о реципрокных различиях по отношению к качеству пыльцы. На диплоидной фазе, где нет гетерозиса, различия между гибридами являются основой для осуществления гетерозиса. Наличие различия между гибридами по качеству пыльцы и не крупнее пыльцы линий. Чем же обусловлено различие между гибридами по количеству жизнеспособной пыльцы? Одним из самых интересным является факт различий между реципрокными гибридами. Это ясно свидетельствует о том, что различия между гибридами детерминированы качеством цитоплазмы материнского растения. Реципрокные гибриды F_1 , получив с яйцеклеткой материнскую цитоплазму, продолжают сохранять различия по свойствам пыльцы, что и обуславливает их различия. На гаметофитной фазе различия между цитоплазмными отношениями, очевидно, выявляются в большей мере в диплоидной фазе, где несовместимость какого-либо из факторов цитоплазмы может быть компенсирована другим фактором в гетерозисе промежуточных состояний.

ВЫВОДЫ

1. Размеры пылевых зерен диплоидной земляники варьируют в пределах: длина 24--29 мк, ширина 12--16 мк; гибриды имеют промежуточную форму (индекс) и размеры.

2. Пыльца диплоидной земляники разных линий сохраняет жизнеспособность в течение различного числа дней (10--20 дней) после сбора. У гибридов длительность хранения пыльцы детерминирована генетическими особенностями родительских форм и зависит также от направления скрещивания.

3. Показаны реципрокные различия у гибридов по количеству жизнеспособной пыльцы, что говорит о зависимости развития пылевого зерна от качества цитоплазмы материнского растения.

QUALITY OF POLLEN IN HETEROTIC COMBINATIONS OF RECIPROCAL
HYBRIDS IN STRAWBERRY (*FRAGARIA VESCA* L.)

T. S. Fadeyeva and N. M. Irkayeva

The study of the expression of heterosis at the haploid stage (pollen) in the reciprocal interstrain hybrids of strawberry by means of comparison with the pollen of the initial parental forms was done. The following characters were taken into consideration in these comparative studies: the size of the pollen grains, their morphological features, their viability and the durability of the retention of viability estimated by their ability of germination on the agar medium.

The forms studied differed from each other considerably (up to 10—20 days) in the duration of viability retention. Difference was found among reciprocal hybrids regarding to this character.

Thus, it can be concluded that the characters of gametophyte (haploid) phase depend on the quality of the cytoplasm of the maternal organism.

ЛИТЕРАТУРА

- Андреев В. Н. 1925. «Сельскохозяйственное опытное дело», 1(7) — 2(8). Харьков: 1—54.
- Беридзе Р. 1961. Тр. Тбилисс. бот. ин-та, 21: 271—282.
- Вернера А. Р. и К. Е. Третьякова. 1961. В кн.: Первая конференция физиологов и биохимиков растений Сибири. Рост и развитие растений. Иркутск: 29—30.
- Гегерман Е. Л. 1939. «Садоводство», 5: 21—23.
- Дорошенко А. В. 1928. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции, 18, 5: 217—344.
- Калантарян Л. И. 1956. Изв. АН Арм. ССР, 9, 3: 109—114.
- Тедорадзе С. Г. 1958. «Кукуруза», 7: 21.
- Фадеева Т. С. и Г. А. Кириллова. 1961. В сб.: Исследования по генетике, I. Изд. ЛГУ: 147—160.
- Фадеева Т. С. и А. И. Дятлова. 1962. Бот. журн. 47: 1190—1194.
- Adams J. 1916. Bot. gaz., 61: 131—147.
- Crandall C. S. 1912. Proc. Amer. soc., 9: 121—123.
- Johri B. M. а. I. K. Vasil. 1961. Bot. rev., 27, 3: 325—381.
- Kuhn E. 1930. «Züchter», 1: 2—11.
- Rudloff C. F. 1930. Gartenbauwissenschaft, 3, 1: 79—100.
- Valleau W. D. 1918. J. agric. res., 12, 10: 613—670.
-